

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

## ⑫ 公表特許公報(A)

平5-505189

⑬ 公表 平成5年(1993)8月5日

⑭ Int. Cl. <sup>3</sup>	識別記号	庁内整理番号	審査請求 未請求	部門(区分)
A 61 K 31/19	ADN	8413-4C	予備審査請求 有	3 (2)
9/00		7329-4C		
31/19	ADP	8413-4C※		

(全 13 頁)

⑯ 発明の名称 3-グアニジノプロピオン酸の代謝障害の治療および予防のための使用

⑰ 特 願 平3-505980

⑱ 翻訳文提出日 平4(1992)8月26日

⑲ 出 願 平3(1991)2月27日

⑳ 国際出願 PCT/US91/01109

㉑ 国際公開番号 WO91/12800

㉒ 国際公開日 平3(1991)9月5日

優先権主張 ㉓ 1990年2月28日 ㉔ 米国(US) ㉕ 486,615

⑳ 発 明 者 メグラツソン、マーティン・ダ アメリカ合衆国ミシガン州49002、カラマズー、ウィツパーワイル5  
ーラム 337番㉑ 出 願 人 ジ・アツブジョン・カンパニー アメリカ合衆国ミシガン州49001、カラマズー、ヘンリエッタ・ス  
トリート301番

㉒ 代 理 人 弁理士 青山 保 外1名

㉓ 指 定 国 AT(広域特許), AU, BB, BE(広域特許), BF(広域特許), BG, BJ(広域特許), BR, CA, CF(広域特許), CG(広域特許), CH(広域特許), CM(広域特許), DE(広域特許), DK(広域特許), ES(広域特許), FI, FR(広域特許), GA(広域特許), GB(広域特許), GR(広域特許), HU, IT(広域特許), JP, KP, KR, LK, LU(広域特許), MC, MG, ML(広域特許), MR(広域特許), MW, NL(広域特許), NO, PL, RO, SD, SE(広域特許), SN(広域特許), SU, TD(広域特許), TG(広域特許), US

最終頁に続く

## 請 求 の 範 囲

1 3-グアニジノプロピオン酸またはその医薬上許容される塩の、脂肪過多症、高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、インスリン不感性、高アミリン血症、および/または高脂血症よりなる群から選択される代謝障害の治療用医薬を製造するための使用。

2 3-グアニジノプロピオン酸またはその医薬上許容される塩の、農場動物の脂肪含有量を減少させ、および/または高脂血症よりなる群から選択される代謝障害の治療または予防するのに有効な量を該障害に罹り易いあるいは罹った主者に投与することを特徴とする該主者において該障害を治療または予防する方法。

3 3-グアニジノプロピオン酸またはその医薬上許容される塩の脂肪過多症、高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、インスリン不感性、高アミリン血症、および/または高脂血症よりなる群から選択される代謝障害を治療または予防するのに有効な量を該障害に罹り易いあるいは罹った主者に投与することを特徴とする該主者において該障害を治療または予防する方法。

4 3-グアニジノプロピオン酸またはその医薬上許容される塩

の脂肪含有量を減少させ、および/または高脂血症よりなる群から選択される代謝障害を治療または予防するのに有効な量を該障害に罹り易いあるいは罹った主者に投与することを特徴とする該主者において該障害を治療または予防する方法。

5 投与モードが経口であって、主者がヒトである請求の範囲第3項記載の方法。

6 該障害が脂肪過多症である請求の範囲第3項記載の方法。

7 該障害が耐糖能障害である請求の範囲第3項記載の方法。

8 該障害が高インスリン血症である請求の範囲第3項記載の方法。

9 該障害がインスリン不感性である請求の範囲第3項記載の方法。

10 該障害が高血糖症である請求の範囲第3項記載の方法。

11 該障害が高アミリン血症である請求の範囲第3項記載の方法。

12 該障害が高脂血症である請求の範囲第3項記載の方法。

13 3-GPAの該有効量が1~100mg/kg/日の範囲

である請求の範囲第3項記載の方法。

14 3-GPAの該有効量が5~100mg/kg/日の範囲

である請求の範囲第3項記載の方法。

16 3-GPAを飼料に混合して、製剤として、注射により、

または移植可能徐放装置として投与する請求の範囲第4項記載の方法。

17 唯一の有効薬剤としての3-GPAまたはその医薬上許容される塩およびヒトに適合する医薬上許容される担体よりなる経口医薬組成物。

18 処方徐放性処方である請求の範囲第17項記載の組成物。

肥満、高血圧およびアテローム性動脈硬化症で起こり得る。

高血糖症は血中グルコース濃度が飢餓状態において、食事の摂取後において、あるいは誘発診断法、例えば、耐糖能テストの間において、正常濃度を越える疾患である。それはNIDDMならびに肥満で起こり得る。高血糖症はNIDDMと診断されることがなく起こり得る。この疾患は耐糖能障害または前糖尿病と呼ばれる。耐糖能障害は、グルコースの血液からの代謝クリアランス速度が、標準的なグルコース用量を経口または非経口投与した後に、一般的集団で通常起こるのを下回る場合に起こる。それは、NIDDM、ならびに肥満、前糖尿病および妊娠前糖尿病で起こり得る。

高インスリン血症は、飢餓状態において、食事摂取後において、または誘発診断法の間において、正常濃度を越える血中インスリン濃度を有することと定義される。それは、NIDDMまたは肥満で観察でき、高血圧またはアテローム性動脈硬化症と関連し得るし、また不規則であり得る。高インスリン血症は糖尿病の診断なくして起こり得る。それはNIDDMの開始に先立って起こり得る。イン

3-グアニジノプロピオン酸の代謝障害の治療および予防のための使用

#### 発明の分野

本発明は公知化合物の新しい使用を提供する。さらに詳しくは、本発明は、3-グアニジノプロピオン酸(3-GPA)の投与により、ヒトおよび動物の代謝のある種の代謝障害、例えば、高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、インスリン不感性、高アミリン血症、脂肪過多症または高脂血症を治療または予防する方法を提供する。

#### 発明の背景

ヒトおよび動物代謝のいくつかの代謝障害、例えば、高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、インスリン不感性、高アミリン血症、脂肪過多症または高脂血症がある。前記障害のいくつかあるいは全ては以下の病状状態・インスリン非依存性糖尿病(NIDDM)、

スリン抵抗性とも呼ばれるインスリン不感性は、インスリン依存性グルコースクリアランス速度が、高インスリン血症クランプのごとき診断法の間(例えば、デフロンゾ・アール・エイラ

(DeFronzo, R. A., et al), アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (Am. J. Physiol.) 232: E214-E233 (1979)参照]あるいは最小モデルテストの間一般的な集団で通常起こるのを下回る場合に起こる。例えば、ベルグマン・アール・エヌ

ら(Bergman, R. N., et al), ジャーナル・オブ・クリニカル・インベスティゲーション (J. Clin. Invest.) 88: 1456-1479 (1981)参照。インスリン不感性は、また、血中グルコース濃度がインスリンの静脈内投与(インスリン耐性テスト)後における一般的集団で通常起こるよりも高い場合、あるいは血清インスリン

vs グルコース濃度の比が10~16時間の絶食後の一般的集団で通常起こるのを越える場合に起こると考えられる。インスリン不感性はNIDDMまたは肥満で見出すことができ、それは高血圧またはアテローム性動脈硬化症と関連があるかまたはその原因となり

得る。

高アミリン血症は高血中アミリン濃度を有することと定義される。また、アミリンは糖尿病関連ペプチド(DAP)およびインスリン血症関連ポリペプチド(IAP)としても公知である。高アミリン血症はNIDDMまたは肥満で観察し得る。

脂肪過多症は肥満を伴うNIDDMならびにVIDDMを伴わない肥満で観察できる。それは、全身体比重または他の一般的に受け入れられている手段によって測定された一般的集団で通常起こるよりも高い脂肪体比重-脂肪無し体比重と定義される。

高脂血症は血液に異常濃度脂肪を有することと定義される。高脂血症は、合計コレステロールまたは合計トリグリセリドの血清濃度またはLDL-コレステロール/HDL-コレステロールの血清濃度が一般的集団で通常起こるよりも高い場合に存在する。それは、VIDDMまたはアテローム性動脈硬化症で観察される。

前記病気状態は代謝および生物化学的障害を改善または予防することによって治療され得る。加えて、前記病気状態のうちの1つを

ンマーアミノ酸レセプター機能の研究で広く使用されている。例えば、ボウエリ・ブール(Bowery, R. et al)、ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー(Br J Pharmacol) 50: 205~218 (1974) 参照。以下の注記を除き、これらの研究はヒトまたは動物の病気の治療における3-GPAの利用に関するものではない。

グアニジン、モノグアニジンおよびジグアニジン化合物は高脂血症を生じることが示されている。例えば、ワタナベ・シイ(Watanabe, C.)、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J Biol Chem) 33: 253~265 (1918); ビショッフ・エフら(Bischoff, F. et al)、グアニジン構造および高脂血症(Guanidine structure and hyperglycemia) 81: 325~349 (1929) 参照。しかしながら、これらの化合物は毒性であることが観察されている。1957年、ビグアニジン誘導体、例えば、フェンホルミンおよびメトホルミンは臨床的に抗糖尿病薬として用いられていた。このクラスのいくつかのメンバーは今日絶

有するが前記障害のいくつかまたは全てを示すヒトおよび動物は現在認識された病気状態の発生を予防することによって改善され得る。従って、高血圧症、副腎能障害、高インスリン血症、インスリン不感症、高アミリン血症、脂肪過多症または高脂血症の治療に有用な化合物もまたNIDDM、肥満、高血圧またはアテローム性動脈硬化症を治療または予防するのに使用し得る。

3-グアニジノプロピオン酸(3-GPA)は動物およびヒトで発見されている内因性代謝産物である。例えば、ヒラガ・ワイラ(Hiraga, Y. et al)、ジャーナル・オブ・クロマトグラフィー(J Chromatography) 342: 269~275 (1985) およびワタナベ・ワイラ(Watanabe, Y. et al)、グアニジン類(Guanidines)、タナベ・ワイラ(Worl et al) 編、プレナム(Plenum)、ニューヨーク、49~58頁(1983) 参照。シグマ・ケミカル・カンパニー(Sigma Chemical Co.)から入手可能な化合物はある種の代謝「ウォーカー・ジェイ・ビー(Walker J.B.)、アドブ・エンザイモル(Adv Enzymol)、50: 177~242 (1979)」およびガ

で使用されており、一方、他のものは米国およびほとんどの西欧諸国では市場から姿を消し、あるいは禁止されている。例えば、シャファー・ジイ(Schaffer G.)、ダイアベート・メタボル(Diabetes Metabol) (パリ) 9: 148~163 (1983) 参照。

ガンマーグアニジノブチラミドは、また、ティフォルミン(Tyformin)として知られており、オーグメンチン(Augmentin)として知られているティフォルミン塩酸塩は1960年代半ばから1970年代半ばに至るまで有力な抗-糖尿病薬として研究された。オーグメンチンは高脂血症を生じることが、イヌで高血圧を[例えば、マライセ・ダブリュ・ラ(Malaisse, I. et al)、ホルム・メタブ・レス(Born. Metab. Res) 1: 258~265 (1969)]、およびラットおよびウサギで呼吸系および循環系の衰弱を生じることが報告されている。例えば、ブクル・エイラ(Buckle, A. et al)、ホルム・メタブ・レス(Born. Metab. Res) 3: 76~81 (1971) 参照。該アミドの遊離酸は高脂血症活性を欠くと言われていた[例えば、ビーソン・エムラ(Beeson, Y. et al)、ホルム・メタブ・

レス (Bore, Metab. Res.) 3: 188-192 (1971) 参照]。

英国特許第1153424号は、高尿酸血症が存在する糖尿病の治療におけるグアニジノ脂脂肪酸のある種のエステルおよびアミドの使用を開示している。該特許は、これらの化合物は高脂血症または糖尿病に関係する他の兆候もしくは病理状態に対して効果を有することを開示していない。カナダ特許第891509号には、糖尿病における高尿酸血症および高脂血症の治療用のグアニジノ脂脂肪酸のエステルおよびアミドの使用が開示されている。前記したごとく、グアニジノアルカン酸の生物学的活性は異なりかつ好都合ではなくて、高脂血症を治療するそのアミドと比較して効果的な化合物ではないことが知られていた。

英国特許第1195199号は、糖尿病で起こる高脂血症の治療用につき、含インスリン非経口投与組成物にグアニジノアルカン酸またはそのアミドもしくはエステルを使用することを開示している。この特許によると、グアニジノアルカン、アミドまたはエステルをインスリンと組み合わせると、インスリン単独と比較して、低血糖

くして、種々のグアニジノアルカン酸は有意な抗-糖尿病活性を欠き、これらの化合物の公知の抗-糖尿病活性薬剤、例えば、メトホルミンとの組合せは有効な活性を示すことが必要である。

アインスリー・グリーンおよびアルベルトイ (Aynsley-Green and Alberti) は、ラットに3-GPA、アルギニン、グアニジン、4-グアニジノブチラミン、および4-グアニジノ酸を静脈内投与した。アルギニンおよび3-GPAはインスリン分泌を一時的に刺激したが血中グルコース濃度には影響を与えず、一方、他の化合物はインスリン分泌を刺激したが血中グルコース濃度を上昇させた。例えば、アインスリー・グリーン・エイら (Aynsley-Green, A. et al), ホルム・メタブ・レス (Bore Metab. Res.) 6: 115-120 (1974) 参照。ブラシエら (Blachier et al) は、10 mM の3-GPAが単離したラット膵臓細胞で *in vitro* にてインスリン分泌を刺激したことを観察している。例えば、ブラシエ・エフら (Blachier, F et al), エンドクリノロジー (Endocrinology) 124: 134-141 (1989) 参照。3-GPAにより誘導され

た危険を減少化させる。英国特許第1195200号は、糖尿病

で起こる高脂血症の治療につき、グアニジノアルカン酸アミドもしくはエステル誘導体を含有する組成物に、グアニジノアルカン酸を使用することが開示されている。従いての英国特許第1552179号では、高脂血症の治療につき、グアニジノアルカン酸、その塩、アミドまたはエステルを糖新生抑制剤と組み合わせて使用することが開示されている。メトホルミンは糖新生の抑制剤として引用されていた。生物学的データは、好ましいグアニジノアルカン酸誘導体であるHLS23は、血中グルコース濃度がアロキサン糖尿病マウスで測定された7の実験のうち6において単一の薬剤としては不活性であり、第7日には弱い活性を示したに過ぎないことを示していた。最も注目すべきは、英国特許第1195199号、第1195200号および第1552179号は、糖尿病における高脂血症兆候を治療する組成物において、グアニジノアルカン酸の単独活性成分としての用途をクレームしていない。テストしたグアニジノアルカン酸のうち、いくつかは単一の薬剤として不活性であった。か

たインスリン応答は、アルギニンを同濃度でテストした場合に起こる応答の55%であった。10 mg/g 3-GPAを補足した飼料を30-60日間給餌したラットでは、心臓グリコーゲン含有量は増加した。例えば、ロバート・ジュイら (Roberts, J et al), アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (Am. J. Physiol.) 243: H911-H916 (1982) 参照。同様に10 mg/g の3-GPAを補足した飼料を6-10週間給餌したラットでは、骨格筋グリコーゲン含有量が増加した。7-12週間、20 mg/g で3-GPAを補足した飼料を給餌し、かつ5 mg/ml の3-GPAを含有する水を飲水させたマウスは、非補足飼料および水を摂取させたマウスと有意に異なる血清グルコース濃度を有していた。例えば、モerland・ティラ (Moerland, T et al), アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (Am. J. Physiol.) 257: C810-C816 (1989) 参照。

脂肪過多症に関しては、10-20 mg/g の3-GPAを含む飼料の補足の結果、体重が減少した場合があるが、常にそうはな

らないことが知られている【例えば、ショウブリッジ・エイラ (Shoubridge, E. et al)、バイオケミカル・ジャーナル (Biochem. J) 232:125-131 (1985) 参照】。例えば、モールランド (前掲) およびマハンナ・ディラ (Mahanna, D. et al)、イクスベリメンタル・ニューロロジー (Exper Neurol) 68:114-121 (1980) 参照。この効果は骨格筋重量の減少に帰せられており、脂肪過多症または脂肪肝症の減少には帰せられていない。例えば、マハンナ (前掲) およびシールズ・アール (Shields, R. et al)、ラボラトリー・インベスティゲーション (Lab. Invest) 33:151-158 (1975) 参照。

当該分野で要求されているのは、これらの疾患における代謝障害を受けているのを治療または予防するための唯一の治療である。

#### 情報開示の陳述

以下の特許はグアニジノ・脂脂肪酸またはそのアミドもしくはエステルの、インスリン・依存性糖尿病のための使用を開示している。英国特許第1153424号・カナダ特許第891509号・英

ショウブリッジ・エイラ (Shoubridge, E. et al)、バイオケミカル・ジャーナル (Biochem. J) 232:125-131 (1985)、モerland、前掲・マハンナ・ディ・エイラ (Mahanna, D. et al)、イクスベリメンタル・ニューロロジー (Exper Neurol) 68:114-121 (1980)、およびシールズ・アール・ビイラ (Shields, R. P. et al)、ラボラトリー・インベスティゲーション (Lab. Invest) 33:151-158 (1975) 参照。この章で引用したすべての文献は前記にて議論した。

#### 発明の要旨

本発明は、3-グアニジノプロピオン酸またはその医薬上許容される塩を全身投与することと特徴とする高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、高アミリン血症、脂肪過多症および/または高脂血症よりなる群から選択される代謝障害に罹り易いあるいは罹った患者において該障害を治療または予防する方法を提供する。

インスリン・依存性糖尿病の唯一の治療として効果的ではないと

国特許第1195199号・英国特許第1195200号・英国特許第1152179号。これらの特許いずれも、3-GPAの唯一の治療としての使用、あるいは医薬組成物における唯一の有効成分としての使用を開示していない。3-GPAは血中グルコースを低下させることなくインスリン分泌を刺激すること【例えば、アンズレー・グリーン・エイラ (Ansley-Green, A. et al)、ホルモン・アンド・メタボリック・リサーチ (Horm. Metab. Res) 6:115-120 (1974) およびブラシェ・エフ (Blachier, F)、エンドクリノロジー (Endocrinology) 124:134-141 (1989) 参照] および心臓グリコーゲン含有量を増加させることが示されている。例えば、ロバート・ジェイ (Roberts, J)、アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (Am. J. Physiol.) 243: H911-H916 (1982) およびモerland・ティ (Moerland, T)、アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (Am. J. Physiol.) 257:C810-C816 (1989) 参照。また、3-GPAを含む飼料の補足の結果、体重が減少することも公知である。例えば、

せぬことに、3-GPAはヒト疾患の治療において有益であるいくつかの生物学的効果を引き起こすことが判明した。それは、血漿グルコース濃度、インスリン感度、血漿アミリン濃度、脂肪過多症および血漿脂肪濃度を改善する。これらの効果のうちすべては、NIDDMを治療するのに有益である。3-GPAは現在NIDDMの治療に用いられているメトホルミンよりも治療上の利点に優れている。例えば、ビグネリ・アールラ (Vigneri, R. et al)、ダイアベテス・ケア (Diabetes Care) 10:118-122 (1987) 参照。KKA<sup>y</sup> (アップジョン (Upjohn)) 糖尿病マウスに投与した場合、3-GPAはより優れており、血漿グルコース濃度を大いに減少させる。

3-GPAはインスリン・依存性糖尿病と同様の状態のげっ歯類に投与した場合に効果的である。3-GPAは、飼料中2mg/g混合物として13日間投与した場合、脂肪分の少ない血糖正常C57BL/6Jマウス (ジャクソン・ラボラトリー (Jackson Laboratory)) において非絶食血漿グルコース濃度を変化させなかつ

た。より高濃度10mg/gでは3-GPAはC57BL6J ob/obマウスに4日間投与した場合、血糖グルコース濃度に影響しなかったが、13日間の投与の後には、血糖グルコース濃度は減少した。C57BL6J ob/obマウスで血糖グルコース濃度を低下させた3-GPAの用量は>6g/kg体重/日であった。それに対し、より少量の用量(130mg/kg/日)では、糖尿病KKA<sup>+</sup>マウスで抗-高血糖症効果が生じた。3-GPAは上昇された血糖グルコース濃度を減少させるが正常な血糖グルコース濃度ではほとんど影響しないので、3-GPAは高血糖症を改善し、過剰用量の場合に低血糖症反応の危険もほとんど伴わないという大きな治療上の利点を有する。

NIDDMはグルコース溶液の経口または非経口投与の後での絶食または食後状態および耐糖能障害における高血糖症によって特徴付けられる。KKA<sup>+</sup>マウス、NIDDMのげっ歯類モデル、に投与された3-GPAは非絶食血糖グルコース濃度を減少させ、耐糖能を改善する。げっ歯類飼料中の混合物として投与する場合、

で高インスリン血症を改善し、グルコース濃度に対するインスリンの血漿中止を減少させ、これは、インスリン感性の増加を示す。従って、3-GPAはNIDDM、高血圧、肥満、およびアテローム性動脈硬化症の治療または予防で有用である。

高アミリン血症はNIDDMで起こり得、組織グルコース代謝を減少させ【例えば、レイトン・ビイラ (Leighton, B. et al)、ネイチャー (Nature) 335: 632-635 (1988) 参照】、膵臓ホルモン分泌を変化させる【例えば、クラーク・エイ (Clark, A.)、ダイアベティック メディシン (Diabetic Medicine) 6: 561-567 (1989) 参照】。3-GPAは高アミリン血症を改善し、従って、血漿アミリン濃度が増加した病状状態の治療で有益である。

脂肪過多症はNIDDMにおいて、極端なそれ自体病状状態を表す場合、病因である。脂肪および肝臓組織に貯蔵された脂質レベルを減少させることによって3-GPAは脂肪過多症を減じる。従って、当該化合物は肥満単独またはNIDDMに伴うときの治療で有効である。3-GPAの効果は脂肪豊富な組織(例えば、ob/ob

KKA<sup>+</sup>マウスにおける最小有効用量は130mg/kg/日である。より高用量では比例的に大きな効果が生じる。KKA<sup>+</sup>マウスにおける該最小有効用量未満の用量は他の種、例えば、ヒトにおいて血中グルコース濃度を減少させるのに効果的であり得る。というのは、排出はげっ歯類では迅速で、他の種ではより遅く起こり得るからである。

組織インスリン感症障害および高インスリン血症はNIDDM【例えば、デフロンゾ・アール (DeFronzo, R.)、ダイアベテス (Diabetes) 37: 667-687 (1988)】およびレーベン・ジイ (Reaven G.)、ダイアベテス (Diabetes) 37: 1595-607 (1988) 参照】、高血圧【例えば、レーベン、前掲、参照】、肥満【例えば、グラス・エイ (Glass, A.)、前掲、参照】、およびアテローム性動脈硬化症【例えば、レーベン、前掲およびスタウト・アール・ダブリュー (Stout, R. V.)、ダイアベトロジー (Diabetologia) 16: 141-150 (1979) 参照】で起こり、これらの疾患の病因となり得る。3-GPAはKKA<sup>+</sup>マウス

マウスの精巣上体脂肪または脂肪質肝臓)につき選択的であり、一方、筋肉重量は影響を受けないか、あるいは最小限影響を受けるに過ぎない。

血漿低密度リポ蛋白(LDL)コレステロール濃度の増加は冠動脈疾患の病因である。3-GPAは自然発生高脂血症マウスでLDLコレステロール濃度を低下させ、従って、高リポ蛋白血症および冠動脈疾患を治療または予防するのに有用である。

唯一の活性薬剤とは、ここに特許請求することく、投与された3-GPA化合物またはその塩が組成物中でただ1つの薬剤であることという。

代謝障害、即ち、高血糖症、耐糖能障害、高インスリン血症、インスリン不感症、高アミリン血症、脂肪過多症および/または高脂血症に罹り易いまたは罹った患者とは、当該代謝障害を示し、従って、前記した疾患状態の1またはそれ以上を示すようなヒトまたは動物を意味する。かかる患者は通常医量の医師または獣医により容易に診断される。治療とは本明細書中に記載した代謝障害の改善ま

たは全回避を意味する。予防とは、前記代謝障害のいくつかまたは全部を示す患者において、本明細書中に記載した現在認識されている疾患状態の回避を意味する。

これらの目的には、便宜な経路の全身投与、例えば、経口、非経口、鼻孔内または直腸内投与を使用する。一般に、好ましい投与形態は経口投与である。

前記組成物は徐放性処方投与できる。徐放とは、遅延した期間にわたり測定速度にて、薬物が患者に生物学的に利用可能となることを意味する。かかる組成物は当該分野でよく知られている。

3-GPAは脂肪分の少ない体重に影響を与えることなく身体の脂肪を減少させるので、3-GPAは脂肪分の少ない動物産物を生産することをその目標として達成するにつき、肉、家禽、および魚産業にとって大きな商業的利点がある。3-GPAは農場動物の飼料に混合して、あるいは経口投与のまたはカプセル剤のごとき医薬製剤として、注射により、または移植可能な徐放性器具によって投与でき、それにより、産物の蛋白含有量を増加させる一方で脂肪含有

のに有効である。

グルコース-依存性蛋白架橋がいくつかの蛋白の第3次構造を変えてしまうのは公知である。この蛋白グリコシル化は糖尿病合併症ならびに神経障害、腎臓障害、網膜障害、高血圧、およびアテローム性動脈硬化症のごとき非糖尿病ヒトにおける加齢の合併症に寄与し得る。3-GPAは蛋白グリコシル化を阻止するのに有用であり、従って、その反応を治療または予防するのに有用である。

本発明における3-GPAについての投与法は体重に依存する。医薬投与形態において、3-GPAは1~500mg/kg/日の範囲である。好ましい用量は5~100mg/kg/日である。いずれの徐放処方も用いることができる。

#### 発明の詳細な記載

以下の実施例により本発明をさらに詳しく説明する。

#### 実施例1 血糖グルコース濃度の改善

KK<sup>a</sup>マウスにおいて3-GPAが非飽食血糖グルコース濃度に与える効果をテストするために、げっ歯類飼料に混合して3-G

量を減少させる。これは、脂肪分の少ない筋肉組織を生じさせるであろう。また、3-GPAのこの利点は肉、家禽、および魚を消費する公衆に対して、可能な健康にインパクトを与えるであろう。「農場動物」なる語は食品産物のため飼育されている動物と定義される。該語句はウシ、家禽、魚、ブタ、および羊を包含するが、それらの限定されるものではない。

3-GPAは通常のマウスにおいて運動耐性を増加させる。かくして、本発明は、ポリオ後慢性筋肉疲労症候群または筋ジストロフィーのごとき筋肉機能障害を治療するにおいて、あるいは加齢または運動不足に関係する慢性的筋肉虚弱を治療するにおいて、あるいは通常のヒトにおいて忍耐および運動を増加させるのに有用であり得る。

また、3-GPAは低酸素環境に維持したマウスの生存率を改善し、従って、組織低酸素症、例えば、糖尿病ヒトにおける末梢跛行および運動不耐性、ならびに糖尿病および通常ヒトにおけるアンギナ、心筋梗塞および卒中を含めた疾患症状を治療または予防する

PAを4日間当該マウスに投与した。自由に摂食させる状態の意識あるマウスの股高後血脈洞に穿刺することによって採集した血液から血糖を調製する。血液試料は第0日(処理前)および処理の第4日に得た。血糖グルコースはヘキサキナーゼおよびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼを用いる酵素カップルドアッセイによって測定する。データは群当たり5匹のマウスについての平均値±標準偏差として示す。血糖グルコースを20%またはそれを超えて減少させる用量は生物学的に意味のある効果を有するはずであると考えられる。3-GPAによる血糖グルコース濃度の百分率減少は以下の通りである: 0.8mg/g, 20%; 1.5mg/g, 48%; 2mg/g, 52%; 10mg/g, 77%。結果を表1にまとめる。3-GPAは、また、NISSMのモデルであると考えられる肥満、高血糖症C57BL6J ob/obにおいて非飽食血糖グルコース濃度を減少させる。

KK<sup>a</sup>マウスにおいて、3-GPAがグルコース耐性に与える効果をテストするために、該マウスに10mg/gにてげっ歯類飼



料に混合して3-GPAを14日間投与するか、あるいは非満足飼料を摂取させた。血液試料を収集し、表1の説明に記載したごくグルコースについて血糖を分析する。時間0(グルコース投与に先立って)に血液を収集し、15g/kgグルコースの腹腔内注射の後、間隔を置いて収集する。表IIに示したデータは、群当たり5-8匹のマウスについて平均値±標準偏差として示す。

#### 実施例2 インスリン感性における改善

インスリン感性を改善し、および高インスリン血症を改善するにおける3-GPAの有用性を支持するデータは表IIIに示す。KKAマウスに10mg/gの3-GPAを満足して飼料を14日間給餌するか、あるいは非満足飼料を給餌する。血液試料を採取し、表1の説明に記載ごとくにグルコースについて分析する。単一の抗体ラジオイムノアッセイ技術を用いて血糖インスリンを測定する。データは5-6匹マウス/群につき平均値±標準偏差として示す。

#### 実施例3 血糖アマリン濃度の改善

KKAマウスに飼料に2mg/g混合して3-GPAを4日間

に、血糖リガ蛋白プロフィールを非処理の4匹の非糖尿病C57BL/6J ob/obマウスについて示す。

#### 実施例6 非糖尿病肥満マウスにおける脂肪過多症および体重の減少

ジャクソン・ラボラトリーズ(Jackson Laboratories)(バーハーバー(Bar Harbor)、メイン(Maine))から入手したAマウスで3-GPAをテストする。IsoDiaStix<sup>TM</sup>を用い、給餌状態にて、糖尿の有無につきマウスを測定する。2および5mg/g飼料にて粉砕マウス飼料中の混合物として3-GPAを14日間投与するか、あるいは非満足飼料を与える。ベイスおよびラスブン(Pace and Rathbun)の方法を用い、脂肪分の少ないあるいは脂肪質の体重を測定する(ベイス・エヌおよびラスブン・イー・エヌ(Pace, J. and Rathbun, E. J.)), 身体組成の研究(Studies on Body Composition) III、脂肪含有量に対する身体水分および化学的に結合した窒素含有量(The Body Water and Chemically Combined Nitrogen Content Relation to Fat Content)、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・

摂取させるか、あるいは非満足飼料を摂取させる。ob/obマウスに飼料中2または10mg/g混合として3-GPAを30日間摂取させるか、あるいは非満足飼料を摂取させる。表Iに記載したごとくに血液試料を採取する。アマリンは二重抗体ラジオイムノアッセイを用いて血清中にて測定する。結果を表IVに示す。

#### 実施例4 脂肪過多症における改善

3-GPAが体重および器官重量に与える効果をob/obマウスでテストする。該マウスに2mg/gまたは10mg/g混合として試料中にて3-GPAを摂取させるか、あるいは非満足飼料として給餌する。表Vに示すデータは平均値±標準偏差として示す。

#### 実施例5 血漿脂質濃度における改善

ob/obマウスに10mg/g混合として飼料中にて3-GPAを13日間摂取させるか、あるいは非満足飼料を給餌する。リガ蛋白分析について血糖は表Iに記載したごとくに得られる。リガ蛋白濃度はDemand Autoanalyzerで測定する。表IVに示したデータは群当たり5匹のマウスにつき平均値±標準偏差として示す。比較のため

ケミストリー(J Biol Chem)158:658-691(1945)). 分析的研究室天秤を用い、体重および切り出した器官の重量を重量分析手法にて測定する。

表7に示すごとく、体重の百分率として、3-GPAは体重および脂肪重量を有意に減少させ、骨格筋肉の代表的源として選択した脂肪および肝臓は3-GPAによって有意に減少する。(第1次的骨格筋肉重量を反映する)合計脂肪分体重は体重の百分率として表した場合、同様に3-GPAによって減少する。

#### 実施例7 成体アルゲザルにおけるインスリン感性および体重に与える3-GPAの効果

3-GPAをゼラチンカプセル中にて、16mg/kgの用量で11日間、1日3回、経口投与した。ベルグマン・ミニマル・モデル(Berman Minimal Model)技術を用い、インスリン感性を測定した(パシニ・ジイおよびベルグマン・アール(Pacini, G. and Berman, R.) N. MINMOD: 頻りに採取した静脈内グルコース耐性テストからのインスリン感性および肝臓応答性を計算するためのコンピュータ

ータープログラム (a computer program to calculate insulin sensitivity and pancreatic responsivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test)、コンピューターメス・プログラム バイオメド (Computer Meth Progr Biomed.) 23・133-122, 1986)。インスリン感性はすべての被験者で改善された。体重は2匹のもっと重いサルで減少したが、低体重サルでは影響を受けなかった。これらの知見は、脂肪分の少ない組織重量に影響することなく、かつインスリン感性の増加に影響することなく、身体脂肪重量を選択的に低下させることによって3-GPAが体重を減少させた肥満げっ歯類からの餌のデータと一致する。

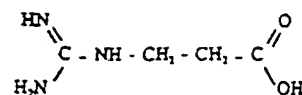


表 1

			非空腹血糖グルコース (mg/dl)		
3-GPA			処置日		時間(分)
飼料中に 配合 (mg/g)	平均用量 (g/kg/d)		0	4	0
<u>実験 1</u>					
Nil	0		481+59	651+52	15
2	0.32		441+68	313+75*	30
10	1.74		464+67	148+5**	60
					120

\*, P=0.006 \*\*P=0.000.

実験 2

3-GPA	飼料中に 配合 (mg/g)	平均用量 (g/kg/d)	処置日	時間(分)
			0	4
Nil		0	628+77	1536+49
0.8		0.13	617+58	429+52*
1.5		0.21	624+64	279+49**

\*, P=0.17 \*\*P=0.006

表 2

血糖グルコース (mg/dl)		P - 値
対照	3-GPA	
484+101	171+21	0.014
842+83	230+40	0.000
527+81	270+31	0.014
430+51	190+19	0.002
327+54	153+18	0.013

表 3

	血漿インスリン ( $\mu$ U/ml)	血漿インスリン/グルコース ( $\mu$ U/mg)
対照	3,009 $\pm$ 419	7.30 $\pm$ 1.57
3-GPA	299 $\pm$ 117*	2.04 $\pm$ 0.83**

\*, P=0.000; \*\*, P=0.016

表 4

種	処理	血漿アミリン (ng/ml)
KKAy	対照	15.0 $\pm$ 4.1 (n=5)
	3-GPA	4.3 $\pm$ 0.6 (n=3)
ob/ob	対照	1.3 $\pm$ 0.2 (n=6)
	3-GPA (2 mg/g)	1.8 $\pm$ 0.2 (n=3)
	3-GPA (10 mg/g)	0.46 $\pm$ 0.05 (n=5)

表 5

実験1	31日処理	4-6マウス/群		
飼料中濃度	0	2 mg/g	10 mg/g	
体重(g)	52.3 $\pm$ 0.7	49.4 $\pm$ 1.1	36.1 $\pm$ 1.5	
肝臓(g)	4.3 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.2	
腎臓上体脂肪(g)	3.7 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 0.2	

実験2	13日処理	5マウス/群	
飼料中濃度	0	10 mg/g	
体重(g)	43.4 $\pm$ 1.3	36.8 $\pm$ 1.3	
肝臓(g)	2.4 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.1	
心臓(g)	0.11 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.004	
膵臓(g)	0.065 $\pm$ 0.004	0.061 $\pm$ 0.004	
脂肪肉(g)	0.050 $\pm$ 0.001	0.047 $\pm$ 0.003	

表 6

表型	ob/7	ob/ob	ob/ob	P-値
3-GPA	(-)	(-)	(+)	ob/ob(-)vs(+)
コレステロール				
合計	114 $\pm$ 4	213 $\pm$ 12	214 $\pm$ 7	0.932
アルファ	96 $\pm$ 3	194 $\pm$ 15	204 $\pm$ 9	0.660
ベータ	18 $\pm$ 1	19 $\pm$ 4	10 $\pm$ 3	0.044
トリグリセリド				
合計	112 $\pm$ 10	170 $\pm$ 41	149 $\pm$ 25	0.656
アルファ	70 $\pm$ 3	87 $\pm$ 4	99 $\pm$ 9	0.078
ベータ	42 $\pm$ 7	83 $\pm$ 38	51 $\pm$ 24	0.464

対象	インスリン感応指標		体重(kg)	
	<u>プラセボ</u>	<u>3-GPA</u>	<u>プレ-Tx</u>	<u>3-GPA</u>
7606	0.0040	0.0058	6.6	6.1
7611	0.0063	0.0076	5.3	5.2
7617	0.0070	0.0110	4.5	4.6

契約書

國 際 工 報 告

Form 927-A-020 (March 2002) (Page 1 of 2)

PCT/US 91/01109

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

Category *	Character of information, if and as to which, nature of document, if and as to which, priority	Number of Copies
A	The Journal of Clinical Investigation, volume 51, no. 4, April 1978, D. S. Gross et al.: "Characterization of a carrier-mediated transport system for taurine in the feta mouse heart in vitro" pages 944-952 see abstract; page 949, table 2	1,2
X	US A. 3843798 (COOK) 22 October 1974 see claims 1.3; column 4, lines 16-37 -----	17,18

Form PCT/ISA 280 (January 1985)

PCT/US 91/01109

IV. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNRESEARCHABLE

The International Searching Authority has not been able to search the prior art in the following fields:

☒ Claim 1-16: The International Searching Authority has not been able to search the prior art in the following fields:

Please see Rule 39.1 (iv): methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods

☐ Claim 17-18: The International Searching Authority has not been able to search the prior art in the following fields:

☐ Claim 19-20: The International Searching Authority has not been able to search the prior art in the following fields:

V. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

The International Searching Authority found multiple inventions in this international application as follows:

☐ As all required additional search fees were timely paid to the International Searching Authority, the International Searching Authority has searched the entire application.

☐ As only some of the required additional search fees were timely paid to the International Searching Authority, the International Searching Authority has searched the application in the following fields:

☐ The International Searching Authority has not searched the application in the following fields:

☐ As all search fees were timely paid to the International Searching Authority, the International Searching Authority has searched the entire application.

☐ The International Searching Authority has not searched the application in the following fields:

Form PCT/ISA 280 (January 1985)

国际调查报告

US 9101109  
SA 45227

This report and the annexed search report are the property of the International Searching Authority. The applicant or its representative is not permitted to reproduce or to use the report for any purpose other than for the purpose of information.

Priority document and its number	Publication date	Priority document	Publication date
GB-A- 1195200	17-06-70	None	
US-A- 3843798	22-10-74	None	

For more details about this report, see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

第1頁の続き

④Int. Cl.

識別記号

片内整理番号

A 61 K 31/19

A E E

8413-4C

優先権主張 ⑤1990年1月22日⑥世界知的所有権機関(WO)⑦PCT/US91/00334